

# 人胃癌IFN- $\gamma$ -STAT1通路的作用及其机制

邓昊, 镇鸿燕, 周红艳, 陈琼霞, 刘丽江

邓昊, 镇鸿燕, 周红艳, 陈琼霞, 刘丽江, 江汉大学医学与生命科学学院病理学与病理生理学教研室 湖北省武汉市 430056

刘丽江, 江大病理诊断中心 湖北省武汉市 430056

邓昊, 2006年华中科技大学同济医学院博士, 讲师, 主要从事胃肠道肿瘤的病理学研究。

武汉市科技攻关基金资助项目, No. 20025007170

武汉市晨光计划基金资助项目, No. 20045006071-7

湖北省自然科学基金资助项目, No. 2006AB191

作者贡献分布: 此课题由邓昊与刘丽江设计; 研究过程由邓昊、周红艳及陈琼霞操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由镇鸿燕提供; 数据分析由邓昊完成; 本文写作由邓昊与刘丽江完成。

通讯作者: 刘丽江, 教授, 430056, 武汉市沌口经济技术开发区学府路8号, 江大病理诊断中心, liulijiang@163.com

电话: 027-82411803 传真: 027-84226503

收稿日期: 2009-01-30 修回日期: 2009-03-26

接受日期: 2009-03-30 在线出版日期: 2009-04-18

## Role of IFN- $\gamma$ -STAT1 pathway in human gastric adenocarcinoma

Hao Deng, Hong-Yan Zhen, Hong-Yan Zhou, Qiong-Xia Chen, Li-Jiang Liu

Hao Deng, Hong-Yan Zhen, Hong-Yan Zhou, Qiong-Xia Chen, Department of Pathology and Pathophysiology, School of Medicine, Jiangnan University, Wuhan 430056, Hubei Province, China

Li-Jiang Liu, Jiangda Pathology Center, Jiangnan University, Wuhan 430056, Hubei Province, China

Supported by: the Scientific and Technological Project in Wuhan City, No. 20025007170; the Young Chenguang Foundation of Wuhan, No. 20045006071-7; and the Hubei Natural Science Fund, No. 2006AB191

Correspondence to: Professor Li-Jiang Liu, Jiangda Pathology Center, Jiangnan University, Wuhan 430056, Hubei Province, China. liulijiang@163.com

Received: 2009-01-30 Revised: 2009-03-26

Accepted: 2009-03-30 Published online: 2009-04-18

## Abstract

**AIM:** To investigate relationships among STAT1, Caspase-7 and  $p21^{waf}$  in gastric adenocarcinoma tissue and gastric adenocarcinoma cell SGC7901, and to shed light on features of IFN- $\gamma$ -STAT1 pathway in gastric adenocarcinoma.

**METHODS:** Gastric adenocarcinoma tissue was tested by immunohistochemical method. SGC7901 cell was treated with IFN- $\gamma$  and STAT1 antisense oligonucleotides, and mRNA and protein expression was detected using RT-PCR, immunocytochemistry and image analysis meth-

ods. Apoptosis was determined by Hoechst 33258.

**RESULTS:** Caspase-7 was positive correlation with STAT1 and  $p21^{waf}$  ( $r = 0.32, 0.22$ , both  $P < 0.05$ ) in gastric adenocarcinoma tissue. IFN- $\gamma$  promoted mRNA and protein expression of STAT1, Caspase-7 and  $p21^{waf}$  was up-regulated in SGC7901 cell ( $P < 0.05$ ). After treatment with IFN- $\gamma$  along with varied concentrations of STAT1 antisense oligonucleotides, significantly lower STAT1 mRNA and protein expression was observed than IFN- $\gamma$  used alone in SGC7901 cells, which showed a concentration-dependent manner ( $P < 0.05$ ); significantly lower Caspase-7 and  $P21^{waf}$  protein expression was observed than IFN- $\gamma$  used alone in SGC7901 cell in a concentration-dependent manner ( $P < 0.05$ ). However, mRNA expression of Caspase-7 was down-regulated first and then up-regulated, while mRNA expression of  $p21^{waf}$  was up-regulated first and then down-regulated.

**CONCLUSION:** There is a IFN- $\gamma$ -STAT1 pathway in gastric adenocarcinoma tissue and SGC7901 cell line. IFN- $\gamma$ -STAT1 could up-regulate the expression of Caspase-7 and  $p21^{waf}$  in gastric adenocarcinoma, but could not induce apoptosis. The downstream molecular of IFN- $\gamma$ -STAT1 pathway has different expression features in mRNA and protein expression level in gastric adenocarcinoma.

**Key Words:** Interferon  $\gamma$ ; Signal transducer and activator of transcription 1; Caspase-7;  $p21^{waf}$ ; Gastric adenocarcinoma

Deng H, Zhen HY, Zhou HY, Chen QX, Liu LJ. Role of IFN- $\gamma$ -STAT1 pathway in human gastric adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(11): 1103-1107

## 摘要

**目的:** 分析人胃癌组织和胃癌SGC7901细胞中STAT1、Caspase-7及 $p21^{waf}$ 的表达关系, 并探讨胃癌中IFN- $\gamma$ -STAT1分子通路特点。

**方法:** 人胃癌组织免疫组织化学染色, IFN- $\gamma$

## ■背景资料

胃癌是一类严重威胁我国人群健康的恶性肿瘤, 其死亡率较低。迄今, 有关胃癌低死亡率的机制尚未取得突破性的研究进展。干扰素 $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )是II型干扰素中的唯一成员, 其可通过STAT1促进肿瘤细胞凋亡。所涉及的主要环节可能是通过STAT1上调 $p21^{waf}$ 、Caspase-7等表达, 进而促细胞凋亡。关于胃癌IFN- $\gamma$ -STAT1分子通路的特点以及与胃癌凋亡的关系当前研究较少。

## ■同行评议者

樊建平, 教授, 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科

## ■研究前沿

传统观念认为STAT1是IFN- $\gamma$ 信号传导途径中极其重要的一环,几乎所有IFN- $\gamma$ 刺激表达的蛋白均要通过其转录调控实现表达,但是近期研究发现当STAT1通路缺如时,仍有接近1/3的蛋白被激活表达;同时,IFN- $\gamma$ 在促进STAT1磷酸化时,也激活了大量其他信号通路分子,这些现象及其发挥的作用远非IFN- $\gamma$ -JAK2-STAT1经典通路可以解释。胃癌中IFN- $\gamma$ 的生物学作用以及其信号通路的特点尚待研究。

及STAT1反义寡核苷酸处理SGC7901细胞。免疫细胞化学、RT-PCR及图像分析的方法检测mRNA和蛋白水平变化,应用Hoechst 33258观察细胞凋亡。

**结果:**人胃癌组织Caspase-7与STAT1和 $p21^{waf}$ 正相关( $r = 0.32, 0.22$ , 均 $P < 0.05$ ); SGC7901细胞经IFN- $\gamma$ 处理后, STAT1、Caspase-7和 $p21^{waf}$  mRNA和蛋白表达明显上升( $P < 0.05$ )。经IFN-和不同浓度STAT1反义寡核苷酸联合处理后, STAT1 mRNA和蛋白表达较IFN- $\gamma$ 单独处理明显下降,有浓度依赖性( $P < 0.05$ )。Caspase-7和 $p21^{waf}$ 蛋白表达较IFN- $\gamma$ 单独处理明显下降,有浓度依赖性( $P < 0.05$ ),但是mRNA表达量则随着STAT1反义寡核苷酸浓度变化,出现Caspase-7先下降后上升,  $p21^{waf}$ 先上升后下降的变化。经IFN- $\gamma$ 和STAT1反义寡核苷酸处理后细胞无明显凋亡。

**结论:**人胃癌组织和胃癌细胞系SGC7901中存在IFN- $\gamma$ -STAT1通路,且可上调Caspase-7和 $p21^{waf}$ 的表达,但无明显凋亡调控作用;胃癌IFN- $\gamma$ -STAT1分子通路的下游分子在mRNA水平和蛋白水平表达变化不一致。

**关键词:** 干扰素- $\gamma$ ; 转录信号转导子和活化子1; Caspase-7;  $p21^{waf}$ ; 胃癌

邓昊, 镇鸿燕, 周红艳, 陈琼霞, 刘丽江. 人胃癌IFN- $\gamma$ -STAT1通路的作用及其机制. 世界华人消化杂志 2009; 17(11): 1103-1107

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1103.asp>

## 0 引言

胃癌是一类严重威胁我国人群健康的恶性肿瘤<sup>[1-2]</sup>。临床资料和实验研究显示胃癌细胞的凋亡率较低<sup>[3]</sup>。转录信号转导子和活化子1(signal transducer and activator of transcription 1, STAT1)是干扰素 $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )信号传导通路中的重要分子,可促进肿瘤细胞凋亡<sup>[4-6]</sup>。IFN- $\gamma$ 是II型干扰素中的唯一成员,在抗病毒,细胞生长调节以及细胞凋亡调节等方面发挥其生物学作用<sup>[7-8]</sup>。IFN- $\gamma$ 主要通过与Jak蛋白酪氨酸激酶(janus protein tyrosine kinase, JAK)2受体结合,促进STAT1蛋白的Y701和S727位点磷酸化并使STAT1同源二聚化。STAT1同源二聚体入核后,可与具有GAS(gamma activated sequence)结构的启动子序列结合发挥转录调控作用<sup>[9-11]</sup>。在细胞凋亡方面,所涉及的主要环节可能是STAT1可促进 $p21^{waf}$ 、Caspase-7等表达<sup>[12-13]</sup>。本研究拟通过使用临

床病理学和细胞生物学的方法,观察STAT1、Caspase-7和 $p21^{waf}$ 在胃癌组织和细胞系中的表达关系,及经IFN- $\gamma$ 处理后三者分子水平的变化以及细胞凋亡情况,探讨胃癌IFN- $\gamma$ -STAT1分子通路的特点以及在胃癌中发挥的生物学作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集江汉大学附属医院1989-2003年胃癌根治性手术切除标本102例。所有病例术前均未进行放疗和化疗。胃癌细胞株SGC-7901,使用含100 g/L小牛血清(Gibco)的RMPI 1640培养基(Gibco),置于37℃, 50 mL/L CO<sub>2</sub>(体积分数)的培养箱中培养,2-3 d换液1次。抗STAT1 mAb(P84/P91, C-136, Santa Cruz公司产品)购至北京中山公司,即用型鼠抗人Caspase-7 mAb(7CSP01, NeoMark公司产品),即用型鼠抗人 $p21^{waf}$  mAb(F-5, sc-6246, Santa Cruz公司产品)和SP法即用型检测试剂盒均购至福州迈新生物公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 ASON的转染以及药物处理:**使用1000 IU/mL IFN- $\gamma$ <sup>[14]</sup>(102CY27, PEPROTECH EC)分别处理细胞0.5、3和24 h。反义寡核苷酸及引物序列由赛百胜生物技术有限公司合成,使用阳离子脂质体Transfectin(TianGENE)进行转染。反义寡核苷酸的序列设计以及浓度的使用根据已发表的文献,STAT1反义寡核苷酸(ASON)5'-CCACTGAGACATCCTG CCACC-3',按照600 nmol/L和800 nmol/L的浓度转染<sup>[15]</sup>。将STAT1 ASON与1000 IU/L IFN- $\gamma$ 联合处理细胞24 h;细胞的转染严格按照说明书操作,反义寡核苷酸:脂质体约为1:2-3。

**1.2.2 RT-PCR检测及图像分析:**用TRIzol(Invitrogen)提取总RNA,样品纯度和浓度经核酸测定仪测定, $A_{260/280}$ 为1.8-2.0。严格按照RT-PCR试剂盒(TaKaRa)说明书操作进行RT-PCR。使用Primer 5.0引物设计软件分别设计STAT1、Caspase-7、 $p21^{waf}$ 和 $\beta$ -actin的上游和下游引物(表1)。目的引物与 $\beta$ -actin用一管法进行PCR。PCR产物经1.5 g/L的琼脂糖凝胶电泳检测,使用Biostep Photoimpact软件分析各组目的基因与 $\beta$ -actin条带的平均吸光度,计算两者的比值,进行相对定量。

**1.2.3 免疫组织化学、免疫细胞化学及图像分析:**使用DAB显色,STAT1以癌组织细胞质和/或细胞核内呈棕黄色表达为阳性。Caspase-7和 $p21^{waf}$ 以癌组织细胞质内呈棕黄色表达为阳性。

表1 STAT1、Caspase-7、 $p21^{waf}$ 及 $\beta$ -actin的引物

引物	上游	下游	长度(bp)
STAT1	5'-CATGCGGTTGAACCCTACA-3'	5'-TTCTACAGAGCCCACTATCC-3'	342
Caspase-7	5'-ATTTGACAGCCCACTTTAGG-3'	5'-GCATGATTCCAGGTCTTTT-3'	297
$p21^{waf}$	5'-GCGACTGTGATGCGCTAATGG-3'	5'-TAGAAATCTGTCATGCTGGTCTGC-3'	358
$\beta$ -actin 1	5'-TGCTGTCCCTCTACGCCTCT-3'	5'-GCTTCTCCTTGATGTCGC-3'	234

染色操作严格按照说明书要求进行。免疫细胞化学染色结果, 经图像采集, 使用MOTIC图像分析系统测量其平均吸光度。

**1.2.4 Hoechst3325染色检测细胞凋亡:** 无菌条件下取出细胞爬片并固定后, Hoechst33258孵育15 min, 0.01 mol/L PBS洗5 min $\times$ 1次。水溶性封片剂封片, 荧光显微镜紫外光下观察, Hoechst33258染料呈现蓝色荧光。高倍镜下观察, 凋亡细胞为蓝色亮点, 亮度明显强于未凋亡细胞, 形态学上出现核膜消失、核固缩、核碎裂等特征。随机数取1000个细胞进行凋亡细胞计数。

**统计学处理** 全部数据经SPSS12.0统计学软件处理, 相关因素分析采用Spearman等级相关分析, 各组平均光密度值通过 $t$ 检验分析。  $P < 0.05$ 有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 人胃癌组织中各指标的相关性** STAT1,  $p21^{waf}$ 与Caspase-7呈正相关关系( $r = 0.32, 0.22, P = 0.001, 0.02$ )。STAT1与 $p21^{waf}$ 无关( $r = 0.03, P = 0.75$ )。

**2.2 IFN- $\gamma$ 处理后各指标基因及蛋白水平的表达变化** RT-PCR结果显示: IFN- $\gamma$ 刺激SGC7901细胞0.5、3和24 h后STAT1、Caspase-7和 $p21^{waf}$  mRNA表达呈先下降后上升的趋势, 并于IFN- $\gamma$ 处理24 h时三者表达量达到峰值( $P < 0.05$ , 图1A)。免疫细胞化学结果显示: IFN- $\gamma$ 刺激SGC7901细胞24 h后与对照组比较, STAT1蛋白表达明显上调( $P = 0.04$ ); Caspase-7与 $p21^{waf}$ 的表达量较未处理组相应上升(均 $P = 0.03$ , 图1C)。

**2.3 IFN- $\gamma$ 联合STAT1 ASON处理后各指标基因及蛋白水平的表达变化** RT-PCR结果显示: 使用IFN- $\gamma$ 处理的同时, 使用STAT1反义寡核苷酸600 nmol/L和800 nmol/L浓度抑制STAT1表达, 与IFN- $\gamma$ 组比较, IFN- $\gamma$ +600 nmol/L组STAT1( $P = 0.008$ )和Caspase-7( $P = 0.0002$ )表达量显著降低,  $p21^{waf}$ 表达量显著升高( $P = 0.002$ ); 与未处理组比较, STAT1( $P = 0.003$ )、Caspase-7( $P = 0.0005$ )

和 $p21^{waf}$ ( $P = 0.006$ )表达量升高(图1B)。与IFN- $\gamma$ 组比较, IFN- $\gamma$ +800 nmol/L组STAT1( $P = 0.002$ )表达量显著降低, 而Caspase-7( $P = 0.2$ )和 $p21^{waf}$ ( $P = 0.8$ )无显著变化。与未处理组比较, STAT1表达量无显著变化( $P = 0.9$ ), Caspase-7( $P = 0.0005$ )和 $p21^{waf}$ ( $P = 0.006$ )表达量升高(图1B)。IFN- $\gamma$ +600 nmol/L组和IFN- $\gamma$ +800 nmol/L组STAT1( $P = 0.005$ )、Caspase-7( $P < 0.0001$ )和 $p21^{waf}$ ( $P = 0.03$ )表达有显著性差异(图1B)。

免疫细胞化学结果显示: 使用IFN- $\gamma$ 处理的同时, 使用STAT1反义寡核苷酸600 nmol/L和800 nmol/L浓度抑制STAT1表达, 与IFN- $\gamma$ 组比较, IFN- $\gamma$ +600 nmol/L组STAT1( $P = 0.28$ )、Caspase-7( $P = 0.18$ )和 $p21^{waf}$ ( $P = 0.52$ )表达量无显著性差异; 与未处理组比较, STAT1( $P = 0.18$ )表达量无显著变化, Caspase-7( $P = 0.001$ )和 $p21^{waf}$ ( $P = 0.002$ )表达量升高(图1C)。与IFN- $\gamma$ 组比较, IFN- $\gamma$ +800 nmol/L组STAT1( $P = 0.01$ )、Caspase-7( $P = 0.03$ )和 $p21^{waf}$ ( $P = 0.03$ )表达量显著降低。与未处理组比较, STAT1( $P = 0.2$ ), Caspase-7( $P = 0.4$ )和 $p21^{waf}$ ( $P = 0.5$ )表达量无显著变化(图1C)。IFN- $\gamma$ +600 nmol/L组和IFN- $\gamma$ +800 nmol/L组STAT1( $P = 0.04$ )、Caspase-7( $P < 0.0001$ )和 $p21^{waf}$ ( $P = 0.005$ )表达有显著性差异(图1C)。

**2.4 细胞凋亡的变化** Hoechst33258染色结果显示, SGC7901胃癌细胞在未处理组、IFN- $\gamma$ 处理组、IFN- $\gamma$ +STAT1反义寡核苷酸600 nmol/L组、IFN- $\gamma$ +STAT1反义寡核苷酸800 nmol/L组, 凋亡细胞数无明显变化( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

胃癌是全球第二大常见的恶性肿瘤, 是我国最常见的恶性肿瘤之一, 一经发现多为进展期。迄今, 有关胃癌的发生与发展的机制尚未取得突破性的进展。信号转导子和转录活化子(signal transducer and activator of transcription, STAT)家族至少包括STAT1( $\alpha$ 和 $\beta$ )、2、3、3 $\beta$ 、4、5、6和果蝇STAT蛋白[即D-STAT(mrl)]等8个成员。STAT1是该家族的重要成员, 可促肿瘤细胞

### ■应用要点

本研究证实人胃癌中存在IFN- $\gamma$ -JAK2-STAT1及其通路, 并可调节其下游凋亡相关调控分子, 但无明显凋亡调节作用, 该结论可望进一步完善当前凋亡调控理论, 并为临床治疗提供新的角度和思考。

# ■名词解释

转录信号转导因子和活化子1(STAT1): 是干扰素 $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )信号传导通路中的重要分子, 参与调节许多正常功能活动, 如: 分化、增殖、生存、凋亡和血管发生等, 在肿瘤中主要发挥促凋亡作用。

凋亡<sup>[16]</sup>。虽然其机制尚未完全阐明, 但所涉及的主要环节可能是: (1) IFN- $\gamma$ 等信号因子作用于Jak 2等, 使胞质中STAT1激活并形成二聚体, 进入细胞核促进相应靶基因转录, 从而促进细胞凋亡<sup>[17]</sup>。 (2) STAT1直接上调细胞质Caspase-3、7的水平, 诱发细胞凋亡<sup>[18]</sup>。 (3) STAT1促进 $p21^{waf}$ 表达, 后者与细胞周期调节因子CDK4结合为复合物, 使肿瘤细胞生长停滞, 继而诱发凋亡<sup>[19]</sup>。胃癌细胞中STAT1促凋亡及其机制的研究较少。Beppu *et al*研究发现, IFN- $\gamma$ 可同时促进胃癌细胞系MK-1和GCTM中STAT1(促凋亡)和NF- $\kappa$ B(抑制凋亡)表达上调<sup>[20]</sup>, 当IFN- $\gamma$ 和环孢菌素A(CsA, 抑制NF- $\kappa$ B活性)同时使用时, 凋亡明显增加, 继而使用STAT1反义寡核苷酸抑制STAT1活性时, 胃癌细胞系凋亡发生率大大下降。证实IFN- $\gamma$ 主要通过JAK-STAT1途径促进胃癌凋亡。但STAT1在胃癌中抑制凋亡的分子通路, 尚未见文献报道。

本研究在人体胃癌组织中发现STAT1与Caspase-7正相关,  $p21^{waf}$ 与Caspase-7正相关。提示人胃癌中STAT1的作用机制可能与其他肿瘤一致。因此, 选用胃癌细胞系SGC7901进一步研究。SGC7901是1981年建立的一株胃癌淋巴结转移癌细胞系, 该细胞系凋亡率低<sup>[17]</sup>。

本研究通过使用IFN- $\gamma$ 处理细胞后, STAT1在mRNA和蛋白水平的表达量均明显升高, 而当同时使用IFN- $\gamma$ 和STAT1反义寡核苷酸作用与细胞时, STAT1表达量出现不同程度的降低, 且下降程度与STAT1反义寡核苷酸的浓度有关。提示, 本研究中使用IFN- $\gamma$ 和反义寡核苷酸对于细胞的处理是成功的, 同时, IFN- $\gamma$ -STAT1可促进Caspase-7以及 $p21^{waf}$ 表达的上调。在IFN- $\gamma$ 处理不同时间点, 三者mRNA有先下降再上升的趋势未见报道, 其机制有待进一步研究。

当同时使用IFN- $\gamma$ 和STAT1反义寡核苷酸作用与细胞时, Caspase-7以及 $p21^{waf}$ 的蛋白表达量出现下降的变化, 而且下降程度与STAT1反义寡核苷酸的浓度有关。该现象与STAT1通过上调Caspase-7和 $p21^{waf}$ 的表达, 实现促细胞凋亡功能的理论一致。

但在mRNA水平, 两者表达量的变化则与蛋白水平不同步, 出现Caspase-7先下降后上升,  $p21^{waf}$ 先上升后下降的变化。该结果提示: STAT1在胃癌中分子通路的调控形式与其他肿瘤不同, 其下游分子(Caspase-7和 $p21^{waf}$ )在mRNA水平和蛋白水平表达并不一致, 可能存在其他上游调控基因或在mRNA和蛋白水平之间存在调控, 具

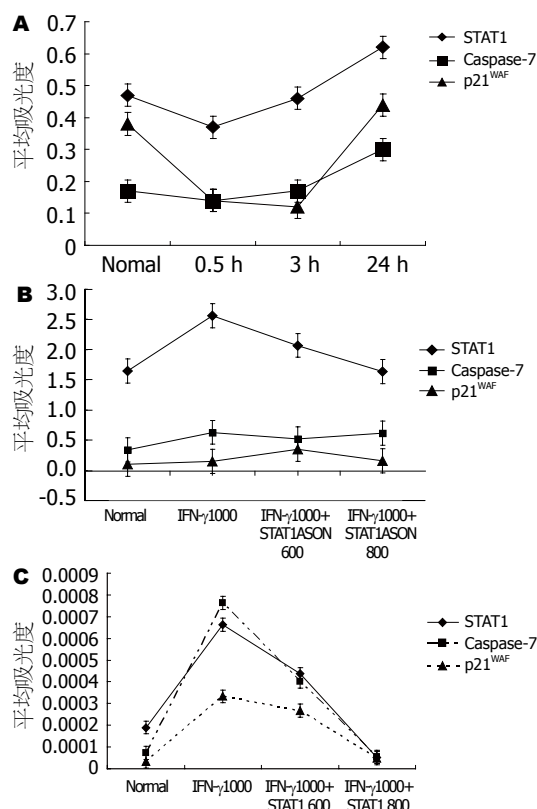


图1 胃癌SGC7901细胞经IFN- $\gamma$ 以及STAT1 ASON处理后各指标mRNA及蛋白水平的表达变化。A: IFN- $\gamma$ (1000 U/mL)处理0.5、3、24 h后各指标mRNA表达的变化; B: IFN- $\gamma$ (1000 U/mL)联合STAT1 ASON处理后各指标mRNA表达的变化; C: IFN- $\gamma$ (1000 U/mL)联合STAT1 ASON处理后各指标蛋白表达的变化。

体机制有待进一步研究。

本研究中, 使用IFN- $\gamma$ 作用于SGC7901细胞, 细胞凋亡水平无明显变化, 该结果与Beppu *et al*研究结果一致<sup>[20]</sup>。

传统观念认为STAT1是IFN- $\gamma$ 信号传导途径中及其重要的一环, 几乎所有IFN- $\gamma$ 刺激表达的蛋白均要通过其转录调控实现表达, 但是近期研究发现IFN- $\gamma$ 信号网络非常复杂, 当经典的IFN- $\gamma$ -JAK2-STAT1通路缺如的情况下, 仍有接近1/3的蛋白被激活表达<sup>[21-24]</sup>; 同时, IFN- $\gamma$ 在促进STAT1磷酸化时, 也激活了CAMK II (Calcium/Calmodulin Kinase II), 3-kinase(PI3-K)/Akt, MAPK(Mitogen Activated Protein Kinase)和PKC(Protein Kinase C)等信号通路分子<sup>[25-29]</sup>, 这些现象及其发挥的作用远非IFN- $\gamma$ -JAK2-STAT1经典通路可以解释。本研究发现, 人胃癌中存在IFN- $\gamma$ -JAK2-STAT1通路; 人胃癌细胞系SGC7901中, IFN- $\gamma$ 可促进STAT1表达继而上调Caspase-7和 $p21^{waf}$ 表达, 而当STAT1缺如时, 两者在蛋白质和mRNA水平的表达却不一致, 同时



IFN- $\gamma$ -JAK2-STAT1通路对胃癌凋亡无明显调节作用; 提示胃癌细胞中存在IFN- $\gamma$ -JAK2-STAT1及其通路, 且该通路可被IFN- $\gamma$ 激活但无明显凋亡调节作用, 该通路在胃癌中的作用及其机制尚需进一步研究。

#### 4 参考文献

- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- 孙秀娣, 牧人, 周有尚, 戴旭东, 张思维, 皇甫小梅, 孙杰, 李连弟, 鲁凤珠, 乔友林. 中国胃癌死亡率20年变化情况分析及其发展趋势预测. *中华肿瘤杂志* 2002; 24: 101-105
- Lauwers GY, Scott GV, Karpeh MS. Immunohistochemical evaluation of bcl-2 protein expression in gastric adenocarcinomas. *Cancer* 1995; 75: 2209-2213
- Klampfer L. The role of signal transducers and activators of transcription in colon cancer. *Front Biosci* 2008; 13: 2888-2899
- Klampfer L. Signal transducers and activators of transcription (STATs): Novel targets of chemopreventive and chemotherapeutic drugs. *Curr Cancer Drug Targets* 2006; 6: 107-121
- Battle TE, Frank DA. The role of STATs in apoptosis. *Curr Mol Med* 2002; 2: 381-392
- Isaacs A, Lindenmann J, Valentine RC. Virus interference. II. Some properties of interferon. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1957; 147: 268-273
- Boehm U, Klamp T, Groot M, Howard JC. Cellular responses to interferon-gamma. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 749-795
- Briscoe J, Rogers NC, Witthuhn BA, Watling D, Harpur AG, Wilks AF, Stark GR, Ihle JN, Kerr IM. Kinase-negative mutants of JAK1 can sustain interferon-gamma-inducible gene expression but not an antiviral state. *EMBO J* 1996; 15: 799-809
- Wen Z, Zhong Z, Darnell JE Jr. Maximal activation of transcription by Stat1 and Stat3 requires both tyrosine and serine phosphorylation. *Cell* 1995; 82: 241-250
- Decker T, Kovarik P, Meinke A. GAS elements: a few nucleotides with a major impact on cytokine-induced gene expression. *J Interferon Cytokine Res* 1997; 17: 121-134
- Huang YQ, Li JJ, Karparkin S. Thrombin inhibits tumor cell growth in association with up-regulation of p21(waf/cip1) and caspases via a p53-independent, STAT-1-dependent pathway. *J Biol Chem* 2000; 275: 6462-6468
- Sironi JJ, Ouchi T. STAT1-induced apoptosis is mediated by caspases 2, 3, and 7. *J Biol Chem* 2004; 279: 4066-4074
- 李莹, 韩炯, 王立峰, 林树新, 药立波, 俞强, 刘新平. 人胃癌细胞株抗脱落凋亡特性的分析. *第四军医大学学报* 2003; 24: 485-488
- Beppu K, Morisaki T, Matsunaga H, Uchiyama A, Ihara E, Hirano K, Kanaide H, Tanaka M, Katano M. Inhibition of interferon-gamma-activated nuclear factor-kappa B by cyclosporin A: A possible mechanism for synergistic induction of apoptosis by interferon-gamma and cyclosporin A in gastric carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 305: 797-805
- Olie RA, Simões-Wüst AP, Baumann B, Leech SH, Fabbro D, Stahel RA, Zangemeister-Wittke U. A novel antisense oligonucleotide targeting survivin expression induces apoptosis and sensitizes lung cancer cells to chemotherapy. *Cancer Res* 2000; 60: 2805-2809
- Darnell JE Jr. STATs and gene regulation. *Science* 1997; 277: 1630-1635
- Leonard WJ, O'Shea JJ. Jaks and STATs: biological implications. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 293-322
- Li F, Ambrosini G, Chu EY, Plescia J, Tognin S, Marchisio PC, Altieri DC. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. *Nature* 1998; 396: 580-584
- Reed JC, Bischoff JR. BIRinging chromosomes through cell division--and survivin' the experience. *Cell* 2000; 102: 545-548
- Gil MP, Bohn E, O'Guin AK, Ramana CV, Levine B, Stark GR, Virgin HW, Schreiber RD. Biologic consequences of Stat1-independent IFN signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 6680-6685
- Shresta S, Sharar KL, Prigozhin DM, Snider HM, Beatty PR, Harris E. Critical roles for both STAT1-dependent and STAT1-independent pathways in the control of primary dengue virus infection in mice. *J Immunol* 2005; 175: 3946-3954
- Malmgaard L, Salazar-Mather TP, Lewis CA, Biron CA. Promotion of alpha/beta interferon induction during in vivo viral infection through alpha/beta interferon receptor/STAT1 system-dependent and -independent pathways. *J Virol* 2002; 76: 4520-4525
- Ramana CV, Gil MP, Schreiber RD, Stark GR. Stat1-dependent and -independent pathways in IFN-gamma-dependent signaling. *Trends Immunol* 2002; 23: 96-101
- Varinou L, Ramsauer K, Karaghiosoff M, Kolbe T, Pfeffer K, Muller M, Decker T. Phosphorylation of the Stat1 transactivation domain is required for full-fledged IFN-gamma-dependent innate immunity. *Immunity* 2003; 19: 793-802
- Choudhury GG. A linear signal transduction pathway involving phosphatidylinositol 3-kinase, protein kinase Cepsilon, and MAPK in mesangial cells regulates interferon-gamma-induced STAT1alpha transcriptional activation. *J Biol Chem* 2004; 279: 27399-27409
- Deb A, Haque SJ, Mogensen T, Silverman RH, Williams BR. RNA-dependent protein kinase PKR is required for activation of NF-kappa B by IFN-gamma in a STAT1-independent pathway. *J Immunol* 2001; 166: 6170-6180
- Nair JS, DaFonseca CJ, Tjernberg A, Sun W, Darnell JE Jr, Chait BT, Zhang JJ. Requirement of Ca2+ and CaMKII for Stat1 Ser-727 phosphorylation in response to IFN-gamma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 5971-5976
- David M, Petricoin E 3rd, Benjamin C, Pine R, Weber MJ, Larner AC. Requirement for MAP kinase (ERK2) activity in interferon alpha- and interferon beta-stimulated gene expression through STAT proteins. *Science* 1995; 269: 1721-1723

#### ■同行评价

本研究着眼于胃癌细胞中STAT1凋亡信号通路的探讨, 重点研究了STAT1与下游因子Caspase-7和p21<sup>waf</sup>的关系, 以期阐明胃癌发病机制做基础性研究, 立意较新颖, 理论依据较充分, 目的明确, 结果具有较大实用价值。

编辑 李军亮 电编 吴鹏联